

論文内容の要旨

論文提出者氏名 山田 剛司

論文題目

A novel HDAC inhibitor OBP-801 and a PI3K inhibitor LY294002 synergistically induce apoptosis via the suppression of survivin and XIAP in renal cell carcinoma

論文内容の要旨

腎細胞癌は抗癌剤および放射線に対する感受性が低いことが以前から知られている。近年、腎細胞癌における分子標的治療薬の開発が大きく進み、ソラフェニブ、スニチニブ、エベロリムス、テムシロリムス、アキシチニブの 5 剤が本邦でも使用可能となっているが、十分な効果は得られていないのが現状である。

HDAC 阻害剤は、様々な癌種に対して細胞周期停止やアポトーシスを誘導することが報告されている。また、多くの腎細胞癌で PI3K-Akt 経路の異常活性化がみられ、PI3K 阻害剤 LY294002 が腎細胞癌に対してアポトーシスを誘導することが報告されている。そこで、我々は腎細胞癌 786-O 細胞を用いて、新規 HDAC 阻害剤 OBP-801 と既存の PI3K 阻害剤 LY294002 の併用効果、および分子メカニズム解析を行った。

WST-8 assay にて、OBP-801/LY294002 併用による細胞増殖抑制効果の増強が示され、この併用効果は combination index により相乗的であることが判明した。さらに flow cytometry にて、OBP-801/LY294002 併用により著明なアポトーシスを誘導することが示された。2 剤併用によるアポトーシスは pan-caspase 阻害剤である zVAD-fmk によって有意に抑制され、2 剤併用により caspase の活性化が Western blot にて確認された。また、2 剤併用により細胞内 ROS の有意な増加がみられ、2 剤併用によるアポトーシスは ROS scavenger である NAC によりほぼ完全に抑制された。これらの結果より、OBP-801 と LY294002 の併用により、caspase、ROS 依存性アポトーシスが誘導されることが示唆された。

OBP-801/LY294002 併用はアポトーシス阻害分子である survivin と XIAP の発現を減少させることを見出した。NAC の添加により、この 2 剤併用による survivin と XIAP の減少は抑制された。さらに survivin と XIAP の過剰発現により 2 剤併用によるアポトーシスが有意に抑制された。以上より、ROS を介した survivin と XIAP の下方制御が OBP-801/LY294002 併用によるアポトーシスの分子機構の一つであることが示された。

SAHA は現在臨床において最も使用されている HDAC 阻害剤である。LY294002 との併用によるアポトーシス誘導効果を、OBP-801 と SAHA とで比較検討した。OBP-801 単剤と SAHA 単剤ではアポトーシス誘導効果に有意差は認められなかったが、LY294002 との併用によるアポトーシス誘導効果は、OBP-801 の方が SAHA よりも強かった。

HDAC 阻害剤は様々な癌種で抗腫瘍効果を持つことが知られているが、単独療法としての効果には限界がある。最近の臨床試験では、HDAC 阻害剤がいくつかの抗癌剤や分子標的治療薬の抗腫瘍効果を増強することが示された。また腎細胞癌では HDAC が高発現していることが報告されており、HDAC 阻害剤が腎細胞癌の治療に有効である可能性を示唆している。

近年、mTOR 阻害剤のエベロリムスとテムシロリムスが腎細胞癌に対する分子標的治療薬として臨床で使用されているが、その効果は十分ではない。mTOR は IGF-I 受容体から PI3K-Akt 経路へのシグナル伝達に重要な役割を果たす IRS-1 を阻害する。したがって、mTOR 阻害剤は PI3K-Akt 経路を活性化させ、これが mTOR 阻害剤の薬剤抵抗性の一因になっていると考えられている。この観点からも、本研究で HDAC 阻害剤と併用する薬剤として PI3K 阻害剤を選択した。

本研究では、OBP-801/LY294002 併用が腎細胞癌 786-O 細胞で survivin と XIAP の発現を下方制御することを示し、survivin および XIAP の過剰発現により、OBP-801/LY294002 併用によるアポトーシスが抑制されることを示した。これは survivin の下方制御が HDAC 阻害剤と PI3K 阻害剤の相乗効果に関与するという最初の報告である。腎細胞癌における survivin の高発現とパクリタキセル、エトポシド、シスプラチンの薬剤抵抗性との相関性、survivin の過剰発現と腎細胞癌の進行との相関性に関しては既報から可能性が示唆されており、これらの報告は腎細胞癌の治療において survivin を標的とするものの妥当性を示している。本研究により、さらに、細胞内 ROS が OBP-801/LY294002 併用による survivin と XIAP の下方制御に関与していることが示された。既報では survivin と XIAP を含む IAP ファミリータンパク質の発現が NF- κ B によって上方制御され、その NF- κ B 活性は ROS によって抑制されていると報告があり、本研究における survivin と XIAP の下方制御も NF- κ B 活性の ROS 依存的な抑制に起因するかもしれない。

最近 OBP-801 と LY294002 の併用が子宮体癌 HEC-1A 細胞で Bim の増加を介して相乗的にアポトーシスを誘導することが報告されているが、本研究では腎細胞癌 786-O 細胞において OBP-801/LY294002 併用による Bim 発現増強は認められなかった。このことは、OBP-801/LY294002 併用によって誘導されるアポトーシスには癌種により機序が異なることを示唆している。本研究では、OBP-801 が SAHA より LY294002 との併用効果が強いことが示された。興味深いことに、SAHA と LY294002 の併用では、survivin と XIAP の発現減少は認められなかった。以上から、腎細胞癌 786-O 細胞においては、両薬剤における併用効果の差は survivin と XIAP の減少に関与している可能性が示唆された。

本研究は、腎細胞癌において新規 HDAC 阻害剤 OBP-801 と PI3K 抑制薬 LY294002 の併用が survivin と XIAP の ROS 依存的な下方制御により相乗的にアポトーシスを誘導することを示した最初の報告であり、この研究が腎細胞癌の新たな治療法の確立に繋がる可能性が期待される。